

平成 28 年 6 月 1 日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462183

研究課題名(和文)呼吸不全に対するヘモグロビン小胞体を用いた酸素輸液治療

研究課題名(英文)Effect of oxygen infusion with hemoglobin vesicles on respiratory insufficiency

研究代表者

河野 光智 (KOHNO, Mitsutomo)

東海大学・医学部・准教授

研究者番号：10276272

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：低肺機能モデルとして肺切除後、循環血液量の30%を脱血するラットモデルで、高酸素親和型ヘモグロビン小胞体(LowP50HbV)投与が循環動態と酸素化へ及ぼす影響を評価した。人工呼吸器離脱後、生理食塩水群では1時間以内に全例が死亡し、5%アルブミン群は生存率60%であった。通常型HbV群とLowP50HbV群、赤血球群は血圧が維持され、全例が生存した。PaO₂はLowP50HbV群で高い傾向を認めた(HbV vs LowP50HbV; p=0.053)。HbVやLowP50HbVの投与は循環動態を安定させ、赤血球投与と同等の効果を示した。特にLowP50HbVは酸素化の改善をもたらす可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Modified Hemoglobin vesicles (LowP50HbV) have high oxygen affinity in which P50 is set at 9 torr, while P50 is set at 28 torr in standard Hemoglobin vesicles (HbV). We investigated the effect of systemic administration of LowP50HbV on a rat pneumonectomy model with perioperative hemorrhagic shock. Blood pressure declined at 30 mmHg after removal of 30% of circulating blood volume following pneumonectomy and recovered after each transfusion. All the rats infused with normal saline and 40% of the rats infused with 5% of albumin solution died during weaning from ventilation, while rats transfused with standard HbV, those transfused with LowP50HbV, or those transfused with rat red blood cells all survived. PaO₂ tended to be higher in the rats transfused with LowP50HbV (HbV vs. LowP50HbV; p=0.053). Administration of HbV or LowP50HbV showed similar effects to that of red blood cells. Especially, LowP50HbV transfusion may improve blood oxygenation on pneumonectomized rats.

研究分野：呼吸器外科

キーワード：人工赤血球 外科手術 出血性ショック 肺切除 呼吸不全

1. 研究開始当初の背景

研究代表者は肺癌などの外科的治療のために日々邁進しているが、術後の感染性肺炎や間質性肺炎の急性増悪で患者を失う経験をしている。これまでに肺切除術後の感染性肺炎が重症化しやすい原因や間質性肺炎が増悪するメカニズムを、動物モデルを使用して明らかにしてきた(Tajima A. *ICVTS* 2008, Kakizaki T. *J Surg Res*, 2009)。臨床で肺損傷が重症化して呼吸不全となった場合は人工呼吸器を使用するが、休ませるべき損傷肺に高濃度酸素を高圧力で送り込むため、ventilator induced lung injury (VILI)などを生じて肺損傷が不可逆的に進行してしまうことがある。人工呼吸器を回避または短縮すること、酸素濃度を低下させ、気道内圧の上昇を抑制することが理想である。肺への負担を軽減させる治療として ECMO を用いた治療があるが、管理が難しく手間もかかるため一般的ではなく、有効性に関して未だ議論が残る。人工酸素運搬体として開発されたヘモグロビン小胞体(HbV)はヘモグロビンを内包させたりポソームであり、期限切れの輸血用ヒト赤血球よりヘモグロビンを抽出、精製、ウイルス不活化を行ったのち、脂質二重膜に内包、膜表面を PEG 修飾して粒径を 250nm、P50 は 28Torr に調製した粒子である。長期保存が可能で、血液型に関係なく使用でき、感染症の可能性がなく、実用化が期待されている。奈良県立医科大学の酒井宏水教授(連携研究者)が開発し、研究者の所属した慶應義塾大学などにおいて動物実験で生体内での機能と安全性の評価が行われてきた (Sakai H. *Artif Organs*, 2009)。

ヘモグロビン小胞体の特筆すべき特徴は酸素親和性を変化させることが出来る点である。通常型 HbV は P50 を生理的な 28 Torr に調整しているが、アロステリック因子を加えずに P50 を 9 Torr にまで低下させて高酸素親和型 HbV を作製することが出来る。この高酸素親和型を輸液することによって皮膚筋弁の低酸素を改善し、生着率が高まることや、腫瘍組織内の酸素分圧が高まり、放射線治療効果が増加することも確認されている (Yamamoto M. *J Surg Res*, 2009)。

以上のような特性を持つ HbV を呼吸不全状態で輸液すると、狭小化した肺毛細血管をスムーズに通過してより多くの肺胞と接して効果的に酸素を取り込み、より多くの酸素分子を各組織まで輸送すると期待される。特に高酸素親和型 HbV の酸素化改善効果には期待できると考えた。

2. 研究の目的

当初、エンドトキシンやブレオマイシンを用いた肺損傷モデルにおいて HbV および高酸素親和型 HbV の効果を評価する計画であったが、肺損傷の程度が一定せず、評価に適した安定したモデルを作成することが困難であった。そこで呼吸機能が著しく低下するラッ

ト肺切除周術期出血モデルにおいて、高酸素親和型 HbV (LowP50HbV) 投与が循環動態と血液の酸素化に及ぼす影響を評価した。

3. 研究の方法

ラットで人工呼吸器管理下に左肺を全摘除する。全循環血液量の 30% を脱血し、等量の輸血或いは輸液を行う。人工呼吸器離脱後 1 時間まで、頸動脈に挿入したカニューレを用いて血圧モニタリングと動脈血液ガス分析、血中乳酸値の測定を行う。輸液を変え以下の動物群を作成する。(1)生理食塩水 N/S 群、(2)5%アルブミン Alb 群、(3)通常型ヘモグロビン小胞体 HbV 群(HbV を 5%アルブミン液に分散)、(4)高酸素親和性ヘモグロビン小胞体 LowP50HbV 群(高酸素親和型 HbV を 5%アルブミン液に分散)、(5)ラット赤血球液 ratRBC 群 (ラット赤血球を 5%アルブミン液に分散)。HbV と LowP50HbV、ratRBC の Hb 濃度は 8.6 g/dl に調整する。

4. 研究成果

肺切除術後、脱血により血圧は 30mmHg まで低下しショック状態となるが、各輸液により上昇した。人工呼吸器離脱後、N/S 群では血圧が低下し 1 時間以内に全例が死亡した。Alb 群は生存率 60%であった(Figure 1)。HbV 群と LowP50HbV 群、ratRBC 群は血圧が維持され、全例が生存した。

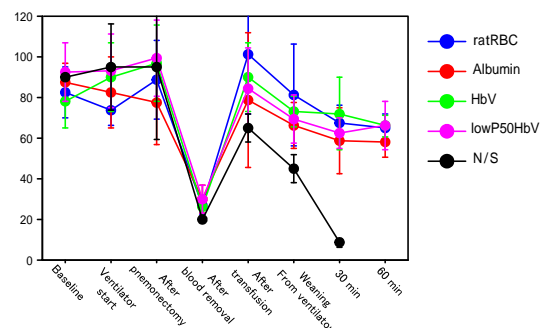


Figure 1. Changes of blood pressure during pneumonectomy, blood removal and transfusion

N/S 群と Alb 群の生存中ラットで測定された脈拍数は高い傾向が認められたが、HbV 群と LowP50HbV 群、ratRBC 群では安定していた (Figure 2)。

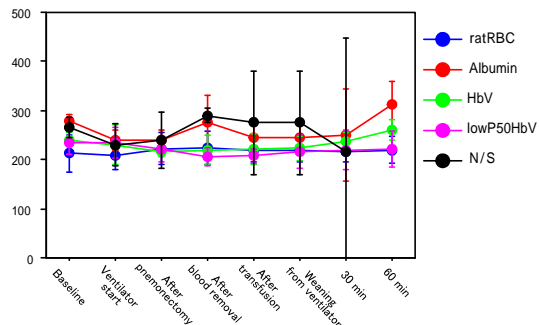


Figure 2. Changes of heart rates during

pneumonectomy, blood removal and transfusion

人工呼吸器離脱 1 時間後の動脈血酸素分圧 PaO₂ (mean ± SD mmHg) は HbV 群では 57.6 ± 5.9、LowP50HbV 群で 72.5 ± 14.5、ratRBC 群で 62.0 ± 14.4 と、有意差は認めないが LowP50HbV 群で高値を示す傾向を認めた(HbV vs. LowP50HbV; p=0.053, Figure 3)。PaCO₂ の測定値に群間に有意差を認めなかった(Figure 4)。

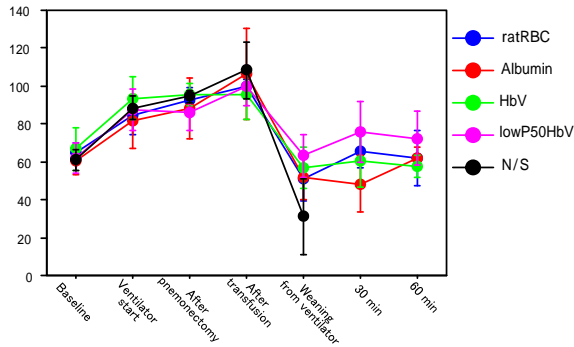


Figure 3. Changes of PaO₂ during pneumonectomy, blood removal and transfusion

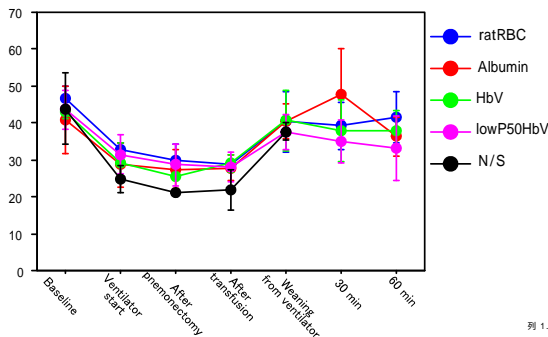


Figure 4. Changes of PaCO₂ during pneumonectomy, blood removal and transfusion

N/S 群の生存中ラットで測定された pH と BE は低い傾向が認められたが、HbV 群と LowP50HbV 群、ratRBC 群では安定していた(Figure 5 & 6)。

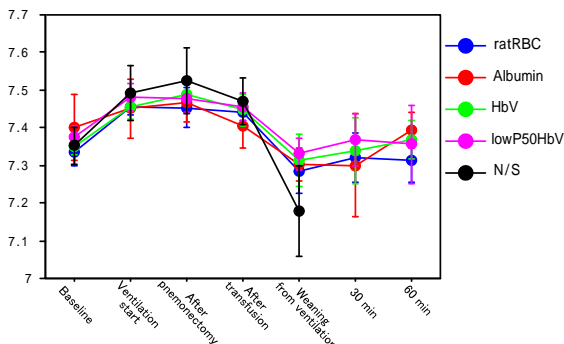


Figure 5. Changes of pH during pneumonectomy, blood removal and

transfusion

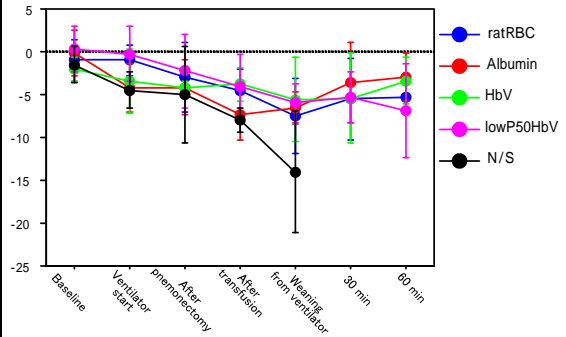


Figure 6. Changes of BE during pneumonectomy, blood removal and transfusion

N/S 群と Alb 群の生存中ラットで測定された血中乳酸値は上昇したが、HbV 群と LowP50HbV 群、ratRBC 群の 3 群では血中乳酸値も低値が維持された(Figure 7)。

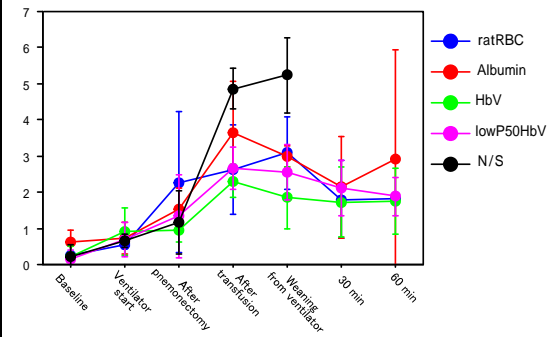


Figure 7. Changes of lactate concentration in serum during pneumonectomy, blood removal and transfusion

【結論】左肺全摘術中の大量脱血でショック状態に陥ったラットにおいて、HbV や LowP50HbV の投与は循環動態を安定させ赤血球投与と同等の効果を示した。特に LowP50HbV は酸素化の改善をもたらす可能性がある

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 5 件)

河野光智、松田信作、神山育男、堀之内宏久、渡辺真純、酒井宏水、小林紘一、岩崎正之. 人工赤血球製剤の臨床への橋渡し研究 ラット肺切除周術期出血モデルにおけるヘモグロビン小胞体投与の循環動態と血液酸素化に及ぼす影響. シンポジウム. 第 22 回日本血液代替物学会年次大会. 2015 年 10 月 22 日. 熊本大学薬学部宮本記念館(熊本県熊本市)

酒井宏水、小田切優樹、東寛、木下学、高瀬凡平、河野光智、岩本美智子、堀之内宏久、高折益彦、小林紘一。人工赤血球製剤の臨床への橋渡し研究 備蓄・緊急投与が可能な人工赤血球製剤の実用化を目指す研究。シンポジウム。第22回日本血液代替物学会年次大会。2015年10月22日。熊本大学薬学部宮本記念館（熊本県熊本市）

河野光智、神山育男、松田信作、渡辺真純、堀之内宏久、酒井宏水、小林紘一。人工赤血球(ヘモグロビン小胞体)製剤の効能と安全性 外科周術期出血モデルにおけるヘモグロビン小胞体投与の効果と安全性。第21回日本血液代替物学会年次大会。2014年12月9日。中央大学後楽園キャンパス（東京都文京区）

河野光智、神山育男、松田信作、渡辺真純、堀之内宏久、酒井宏水、小林紘一。人工赤血球製剤の効力と安全性 肺切除周術期出血モデルにおけるヘモグロビン小胞体投与の効果と安全性。第52回日本人工臓器学会大会。2014年10月18日。京王プラザホテル札幌（北海道札幌市）

河野光智、重信敬夫、神山育男、渡辺真純、堀之内宏久、酒井宏水、小林紘一。人工赤血球(ヘモグロビン小胞体)製剤の将来展望 肺切除周術期出血モデルにおけるヘモグロビン小胞体投与とHIF-1 alphaの発現について。シンポジウム。第20回日本血液代替物学会年次大会。2013年12月6日。奈良県新公会堂（奈良県奈良市）

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

河野 光智 (KOHNO, Mitsutomo)

東海大学・医学部・准教授

研究者番号：10276272

(2)研究分担者

渡辺 真純 (WATANABE, Masazumi)

慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号：90201227

(3)連携研究者

酒井 宏水 (SAKAI, Hiromi)

奈良県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：70318830